

Uncária tomentosa e a lesão renal aguda isquêmica em ratos

UNCARIA TOMENTOSA AND ACUTE ISCHEMIC KIDNEY INJURY IN RATS

UNCÁRIA TOMENTOSA E A LESÃO RENAL AGUDA ISQUÊMICA EM RATOS

Maria de Fátima Fernandes Vattimo¹, Natalia Oliveira da Silva²

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito renoprotetor do fitoterápico Uncaria tomentosa sobre a lesão renal aguda isquêmica induzida pelo clampeamento dos pedículos renais de ratos. A hipóxia e a hipoperfusão geradas com a isquemia intensificam a produção de espécies reativas já presentes no processo inflamatório. Os resultados mostraram que a função renal avaliada pelo clearance de creatinina, a excreção de peróxidos urinários (FOX) e a excreção urinária de malondialdeído (TBARS) desses animais apresentou renoproteção induzida pela UT, provavelmente relacionada às suas atividades antioxidantes.

DESCRITORES

Unha-de-gato.
Rim.
Terapêutica.
Ratos.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the renoprotective effects of Uncaria Tomentosa (cat's claw) on ischemic acute kidney injury induced by renal clamping in rats. The hypoxia and hypoperfusion increase the production of reactive species already present in the inflammatory process. Results showed that the renal function evaluated by creatinine clearance, the urinary excretion of peroxides and malondialdehyde indexes demonstrated that UT induced renoprotection, probably related to its antioxidant activities.

KEY WORDS

Cat's claw.
Kidney.
Therapeutics.
Rats.

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto rinoprotector del fitoterápico Uncaria tomentosa sobre la lesión renal aguda isquémica inducida por el clampeo de los pedículos renales de ratones. La hipoxia y la hipoperfusión generadas con la isquemia intensifican la producción de especies reactivas ya presentes en el proceso inflamatorio. Los resultados mostraron que la función renal evaluada por el clearance de creatinina, la excreción de peróxidos urinarios (FOX) y la excreción urinaria de malondialdeído (TBARS) de esos animales demostró rinoprotección inducida por la UT, probablemente relacionada con sus propiedades antioxidantes.

DESCRIPTORES

Uña de gato.
Riñón.
Terapéutica.
Ratas.

¹ Professora Doutora da Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil. nephron@usp.br ² Graduanda da Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo. Bolsa de Iniciação Científica FAPESP. São Paulo, SP, Brasil. nati_sioli@hotmail.com

INTRODUÇÃO

A lesão renal de origem isquêmica corresponde, juntamente com aquelas relacionadas à toxicidade de drogas, a mais de 70% das categorias de insultos agudos de ordem renal, que persistem com mortalidade alarmante mesmo quando instituídas técnicas sofisticadas de resgate de função⁽¹⁾. Trata-se de uma condição na qual a taxa de filtração glomerular se reduz rapidamente, causando súbita retenção de metabólitos endógenos⁽²⁾.

A lesão renal aguda (LRA) ocorre de forma abrangente na população, com um prognóstico sombrio, que pode evoluir para falência múltipla dos órgãos e septicemia⁽³⁾. Caracteriza-se por elevada mortalidade, em torno de 50%, e nos casos em que há necessidade de diálise, esses índices podem chegar a 88%⁽³⁾. É uma complicação de aproximadamente 5% das internações hospitalares e de mais de 30% das internações em UTI⁽⁴⁾. Esses dados tão significativos sugerem que estudos fisiopatológicos e clínicos são fundamentais em busca de seu efetivo controle. Destaca-se entre esses estudos aqueles voltados para a identificação de agentes que demonstrem papel protetor na LRA, destacando-se os estudos experimentais com animais como o ora apresentado.

Na isquemia, a redução da fonte energética, o ATP, exacerba a produção de espécies reativas de oxigênio que, pelo excesso, gera o desequilíbrio entre os agentes pró-oxidantes e as reservas de antioxidantes endógenos⁽⁵⁻⁶⁾. A simples restauração desse fluxo não é capaz, muitas vezes, de prevenir a fase de manutenção da LRA, caso haja lesão tecidual, sendo esta relacionada ao tempo de exposição ao insulto⁽⁷⁻⁸⁾.

Na LRA isquêmica, a lesão tubular representa o evento final, envolvendo a disfunção e/ou morte celular, o que predispõe a célula à obstrução tubular e conseqüente retrodifusão do filtrado, ou seja, o refluxo do ultrafiltrado com redução do volume urinário final. Tal obstrução pode levar ao aumento das pressões intratubulares, causada também pelo processo inflamatório que, apesar de ser um processo fisiológico, metabólitos tóxicos e proteases são liberados por mediadores químicos e favorecem a lesão do tecido já afetado, causando congestão vascular, além de intensificar o desequilíbrio redox. A falência e o descolamento das células epiteliais tubulares favorecem a retrodifusão do filtrado glomerular para os capilares peritubulares. Os eventos de obstrução e retrodifusão contribuem para a redução do ritmo de filtração glomerular, além de provocar edema das células tubulares. A associação dessas lesões, na região da medula renal, sustenta, por meio de feed-back positivo, a perpetuação da lesão renal^(3,6).

Estudos experimentais em ratos demonstram o envolvimento de espécies reativas de oxigênio (ERO's) na lesão isquêmica por meio da intensificação do desequilíbrio redox em rins pós-isquemia⁽⁹⁾.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) reconhece a importância da fitoterapia nos cuidados com a saúde mediante resolução (WHA 31.33, 1978) sugerindo ser uma alternativa viável, particularmente para populações de países em desenvolvimento⁽¹⁰⁻¹¹⁾. No Brasil, paralelamente, a fitoterapia é institucionalizada mediante recomendação interministerial e resolução do Ministério da Saúde condicionando o uso de plantas medicinais no Sistema Único de Saúde a estudos de caracterização de princípios ativos, mecanismos de ação das drogas, dentre outras investigações científicas⁽¹¹⁾.

Plantas medicinais são usadas há séculos nas regiões de floresta peruana. Há muitos anos, pesquisadores investigam propriedades de plantas e espécies vegetais da região, efetuando descobertas sobre as diversas formas de uso dessa biodiversidade da flora, sendo o uso medicinal o mais comum e importante. Em Lima, há inúmeros produtores informais de fitoterápicos, bem como muitos laboratórios e indústrias farmacêuticas obtendo extratos de plantas medicinais por meio de métodos sofisticados. Uma das aplicações dessas plantas é, também, a forma de suplemento alimentar, principalmente para aquelas dotadas de propriedades antioxidantes, como a Unha-de-Gato, ou aquelas com propriedades reparadoras⁽¹²⁾.

A utilização de fitoterápicos [...] pode trazer benefícios relevantes para o controle da lesão renal aguda em suas diversas manifestações.

A *Uncária tomentosa* (Unha-de-Gato, UT ou cat's claw, em inglês) usada há séculos por tribos indígenas da floresta amazônica, que herdaram o conhecimento de seu uso terapêutico dos antigos Incas, é uma planta do tipo *arbus-tos trepadores* que podem atingir até 30m de altura, usando seus espinhos (que lembram unhas de gato, por isso sua denominação popular) para se apoiar e subir através de árvores mais altas⁽¹³⁻¹⁴⁾. Dentre as características a ela

atribuídas, apresenta propriedades imunoestimulantes e antioxidantes provavelmente relacionadas à alta concentração de flavonóides que atuam contra espécies reativas de oxigênio, diminuindo o estresse oxidativo no processo inflamatório⁽¹⁵⁾. Estudos demonstram que novos ácidos quinóicos e outros efeitos da planta podem estar relacionados a tratamentos implementados contra câncer, artrite, gastrite e doenças dermatológicas⁽¹⁶⁾. Extratos isolados de seus componentes, como alcalóides oxindólicos pentacíclicos, podem estar associados ao estímulo de células endoteliais *in vitro* na produção de fatores de regulação da proliferação de linfócitos⁽¹⁷⁾.

A repercussão clínica e o impacto na saúde pública da lesão renal aguda têm se mostrado resistentes a estratégias tradicionais de tratamento, como os métodos de substituição de função. A abordagem preventiva dessa síndrome já não é sem tempo e seguramente poderá resultar em avanços mais favoráveis. A utilização de fitoterápicos nesse cenário, à semelhança do que já ocorreu em doenças cardiovasculares com o uso do vinho pelas propriedades antioxidantes derivadas dos flavonóides⁽¹⁸⁾, pode trazer benefícios relevantes para o controle da lesão renal aguda em suas diversas manifestações.

Assim sendo, esse estudo teve por objetivo principal avaliar os efeitos antioxidantes e antiinflamatórios da *Uncaria tomentosa* (UT) como estratégia de renoproteção em animais pré-condicionados com esse tratamento e submetidos à LRA isquêmica, contudo não se ateve a aspectos como efeitos colaterais e toxicidade, por não serem estes focos do estudo. A análise da fitoterapia na proteção da função renal após disfunção isquêmica traz dados significativos para os reais benefícios do uso clínico desse agente. O embasamento científico para aplicação clínica da UT, bem como para o avanço de pesquisas clínicas sobre a respectiva temática podem agregar valores inusitados na prevenção da LRA isquêmica, e poderão trazer benefícios econômicos para a sociedade/sistema de saúde, por meio da descoberta de estratégia de menor complexidade e menor custo quando comparada a tecnologias pesadas.

OBJETIVO

Avaliar o efeito renoprotetor da *Uncaria tomentosa* sobre a função renal, a excreção urinária de peróxidos e malondaldeído de ratos com LRA isquêmica induzida experimentalmente.

MÉTODO

Trata-se de um estudo quantitativo experimental com modelo animal, aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de São Paulo sob protocolo nº 88/O7/CEEA e realizado no Laboratório de Pesquisa Experimental com Modelos Animais (LEMA) da Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo.

Foi utilizado extrato seco de Unha de gato 100Mg (Herbarium Ltda) em ratos da raça Wistar, adultos, machos, num total de aproximadamente 35 animais, distribuídos nos seguintes grupos:

Sham (controle): ratos submetidos à laparotomia, sem clampeamento dos pedículos renais.

Isquemia: ratos submetidos à isquemia renal de 45 minutos, por meio do clampeamento dos pedículos renais.

Sham + *Uncaria tomentosa* (UT): ratos tratados com UT antes da simulação da isquemia (20mg, VO, 1x dia, 5 dias).

Isquemia + *Uncaria tomentosa* (UT): ratos tratados com UT antes do dia da cirurgia (20mg, VO, 1x dia, 5 dias).

A mensuração da creatinina plasmática e urinária, para a verificação do clearance de creatinina que foi o biomarcador de função renal empregado nesse estudo, foi realizada pelo método de Jaffé⁽⁵⁾.

O método de xilenol laranja versão 2 (FOX - 2) foi utilizado para mensurar a excreção de peróxido urinário⁽¹⁹⁾. A excreção urinária de malondaldeído (MDA) foi mensurada

pelo método TBARS⁽²¹⁾. Ambos, FOX-2 e MDA foram utilizados como parâmetros oxidativos para efeito de avaliação do mecanismo redox.

RESULTADOS

A análise dos resultados foi feita por análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tuckey para comparações múltiplas entre os grupos. Os resultados estão apresentados em tabelas contendo média e desvio padrão. O nível de significância adotado foi de 0,05.

Função Renal

Conforme demonstrado na Tabela 1, não foram observadas, dentre os grupos, variações significantes de peso entre os grupos.

Tabela 1 - Resultados de peso corporal e função renal global dos grupos: Sham, Isquemia, Sham + *Uncaria tomentosa*; Isquemia + *Uncaria tomentosa* - São Paulo - 2009

Grupos (n)	Peso (g)	U (ml/min)	Clcr/100gr (ml/min)
Sham (7)	293±22	0,0062±0,004	0,54±0,09
Isquemia (7)	299±32	0,0176±0,004*	0,17±0,05*
Sham+UT (7)	278±11	0,0134±0,008*	0,54±0,08
Isquemia+UT (7)	287±11	0,0277±0,010**	0,54±0,07**

Sendo: P= peso corporal, U= fluxo urinário e Clcr/100g = clearance de creatinina/100g de peso corporal. *p< 0,05 versus Sham e ** versus Isquemia

Os resultados demonstram que o procedimento cirúrgico do grupo SHAM (sem clampeamento renal) não determinou comprometimento da função renal desses animais quando comparados com o grupo controle de estudos anteriores⁽⁵⁻⁶⁾, o que confirma que o grupo SHAM pode ser utilizado como controle para este estudo.

Foram observadas variações de fluxo urinário nos animais dos grupos que foram submetidos ao modelo de isquemia por clampeamento.

Os animais isquêmicos apresentaram redução da função renal quando comparados ao grupo Sham (0,17±0,05 vs 0,54±0,09), confirmando o episódio de LRA isquêmica com manutenção do fluxo urinário.

O grupo que recebeu pré-tratamento por cinco dias com *Uncaria tomentosa* (Isquemia+UT) apresentou atenuação da redução do clearance de creatinina (0,54±0,07 vs 0,17±0,05) na comparação com o grupo não tratado. Isso confirma melhora significativa da função renal com o pré-tratamento.

Peróxidos Urinários

Na Tabela 2, o grupo Sham apresentou resultado considerado padrão de normalidade para esse parâmetro. O grupo Isquemia, quando comparado ao grupo Sham, apresentou elevação na excreção de peróxidos urinários (11,0±1,5

vs 3,0±0,7), conforme padrão já esperado para o modelo de oxidação implementado.

Tabela 2 - Resultados referentes aos valores de peróxidos urinários dos grupos: Sham, Isquemia, Sham + *Uncaria tomentosa*; Isquemia + *Uncaria tomentosa* - São Paulo - 2009

Grupos	N	Peróxidos urinários (nmol/g de creatinina)
Sham	7	3,0±0,7
Isquemia	7	11,0±1,5*
Sham+UT	5	3,8±1,3
Isquemia+UT	6	3,6±1,0**

*p< 0,05 versus Sham e ** versus Isquemia

Na comparação entre o grupo Isquemia+UT e o Isquemia foi observada diminuição estatisticamente significativa na excreção de peróxidos urinários do grupo submetido ao pré- tratamento (3,6±1,0 vs. 11,0±1,5).

TBARS Urinários (MDA)

A Tabela 3 apresenta valores de TBARS urinários. Os resultados do grupo Sham seguiram o padrão descrito para peróxidos urinários. O grupo Isquemia apresentou elevação estatisticamente significativa quando comparado ao grupo controle (281±90 vs 98±26).

Tabela 3 - Resultados referentes aos valores de TBARS urinários dos grupos: Sham, Isquemia, Sham + *Uncaria tomentosa*; Isquemia + *Uncaria tomentosa* - São Paulo - 2009

Grupos	N	TBARS urinários (nmol/g de creatinina)
Sham	6	98±26
Isquemia	5	281±90 *
Sham+UT	7	108±35**
Isquemia+UT	5	151±33**

*p< 0,05 versus Sham e ** versus Isquemia

Os valores de peroxidação lipídica, ou mecanismo redox, apresentaram-se diminuídos no grupo tratado com UT em comparação ao grupo isquemia (151±33 vs 281±90), permanecendo mais elevados do que o controle, porém sem significância estatística.

DISCUSSÃO

A lesão renal é uma entidade clínica que acomete diversos pacientes graves, principalmente aqueles em septicemia, sendo que essa consiste atualmente na sua principal causa. A mortalidade pela LRA é alta, no mínimo 50%, e se acentua em casos em que coexistem outras morbidades, cenário esse não raro em pacientes de terapia intensiva. Os progressos no cuidado de indivíduos que vivenciam a LRA são nítidos, porém restritos à área de terapias de substituição da função por métodos dialíticos. A persistência da mortalidade em mais de vinte anos de estudos pressupõe que os avanços mencionados não têm resultado em

impacto na epidemiologia da lesão, revalidando a necessidade de adoção de medidas de proteção funcional. Nos últimos anos, os agentes antioxidantes tem se destacado nesse campo e, mais recentemente, o uso de fitoterápicos vem se afirmando com uma possibilidade terapêutica interessante, particularmente em países em que a flora natural é tão abundante, como no Brasil. Esse estudo desenvolveu modelo de lesão renal aguda em ratos com o objetivo de verificar o efeito renoprotetor da UT.

A fisiopatologia da LRA é complexa e multifatorial. Nela, a hipoperfusão e a hipóxia tecidual resultam na queda dos níveis de ATP, na degradação de AMP a acúmulo de hipoxantina. Simultaneamente, há um aumento dos níveis de Ca²⁺ e ativação de proteases dependentes, como a calmodulina que converte a xantina desidrogenase em xantina oxidase⁽³⁾. Por sua vez, ela passa a catalisar a transferência de elétrons para a NAD e oxida a xantina e a hipoxantina para ácido úrico, gerando espécies reativas de oxigênio durante a reperfusão⁽⁶⁾.

A isquemia-reperfusão norteia a ativação e expressão de moléculas de adesão em células endoteliais e de leucócitos. Leucócitos ativam oxidantes como superóxido, óxido nítrico, radical hidroxila, peroxinitrito e ácido hipocloroso que destroem as células endoteliais e epiteliais⁽⁷⁾. Essas espécies reativas de oxigênio comprometem a vitalidade celular, a ação de fatores de crescimento e a proliferação celular, o reparo e regeneração tecidual, dos processos inflamatórios e imunológicos, além da regulação dos sistemas hemodinâmico, hemostático e vascular⁽⁵⁻⁶⁾. Os indicadores de estresse oxidativo incluem bases de DNA alteradas, produtos de oxidação de proteínas e produtos de peroxidação de lipídeos⁽⁶⁾.

A UT é composta por alcalóides oxindólicos e indólicos que apresentam propriedades imunoestimulantes, entre eles ácidos glicosídeos quinóicos que apresentam ações antiinflamatórias e compostos antioxidantes que demonstram ação reparadora celular⁽¹⁶⁻¹⁷⁾. Sua ação antioxidante parece ser consequência da alta concentração de flavonóides que sequestram espécies oxigênio reativas, diminuindo o estresse oxidativo no processo inflamatório^(8,15).

A administração de elementos antioxidantes a esses animais, provavelmente, inibe a ação da xantina oxidase e/ou sequestra os radicais livres, diminuindo assim o dano oxidativo⁽⁶⁾. Princípios ativos desse fitoterápico, como flavonóides, podem agir na remoção de espécies reativas de oxigênio e na redução da peroxidação lipídica, como pôde ser observado no estudo ora apresentado e confirmado pelos parâmetros de excreção urinária de peróxidos e malondaldeído.

O modelo experimental de lesão renal aguda reproduzido nesse estudo buscou, por meio do clampeamento dos pedículos renais por 45 minutos, simular esse processo de hipoperfusão e isquemia-reperfusão, o que se confirmou. O pré-tratamento dos grupos com *Uncaria tomentosa* induziu melhora da função renal com aumento dos valores de clearance de creatinina em animais com LRA isquêmica, além de redução de peróxidos urinários verificada pela diminuição dos valores de marcadores de lesão celular (FOX-

2, TBARS), melhora essa provavelmente relacionada às atividades antioxidantes do fitoterápico.

Sendo assim, os resultados apresentados salientaram o efeito protetor do fitoterápico *Uncaria tomentosa* na função renal de ratos submetidos ao modelo de isquemia renal por clampeamento, com associação à redução de peróxidos urinários e malondealdeído nesses mesmos animais. A combinação de melhora da função renal com redução dos índices de peroxidação lipídica pressupõe que o dano funcional estabelecido pela isquemia é de origem oxidativa, como já demonstrado em outros modelos de lesão. Esses dados reforçam ainda que a fitoterapia pode vir a ser considerada como possibilidade terapêutica, com ação

antioxidante e antiinflamatória, também em situações de risco de lesão renal iminente.

CONCLUSÃO

A geração de peróxidos urinários confirma a lesão oxidativa no modelo de lesão renal aguda isquêmica instituída nesse estudo.

O pré-tratamento com *Uncaria tomentosa* promoveu proteção funcional avaliada pelo aumento do clearance de creatinina, redução da peroxidação e TBARS urinários, o que pode estar relacionado às atividades antioxidantes do fitoterápico.

REFERÊNCIAS

1. Amend WJC, Vincenti FG. Oligúria; Insuficiência renal aguda. In: Smith DR, editor. Urologia geral. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1985. p. 433-6.
2. Robbins SL. Patologia estrutural e funcional. Rio de Janeiro: Interamericana; 1975. Rim; p. 977-1030.
3. Brady HR, Clarkson MR, Lieberthal W. Acute renal failure. In: Brenner BM. Brenner and Rector's the kidney. Philadelphia: Saunders; 2007. p. 1201-62.
4. Schwilk B, Wiedeck H, Stein B, Reinelt H, Treiber H, Brothner U. Epidemiology of acute renal failure and outcome of haemodiafiltration in intensive care. Intensive Care Med. 1997;23(12):1204-11.
5. Oliveira VCR, Tejos CR, Hosaka EM, Andrade SC, Araújo M, Vattimo MFF. Interferência do intervalo de administração da droga sobre a nefrotoxicidade da gentamicina em ratos. Rev Esc Enferm USP. 2001;35(2):200-4.
6. Watanabe M, Neiva LBM, Santos CXC, Laurindo FRM, Vattimo MFF. Isoflavone and the oxygenase system in ischemic acute kidney injury in rats. Food Chem Toxicol. 2007;45(12):2366-71.
7. Quintaes PSL, Noronha IL. Papel dos neutrófilos e moléculas de adesão na fisiopatologia da insuficiência renal aguda isquêmica. J Bras Nefrol [Internet]. 1998 [citado 2007 jul. 6];20(1). Disponível em: http://www.jbn.org.br/audiencia_pdf.asp?aid=758&nomeArquivo=20-01-17.pdf
8. Seguro AC, Yu L, Burdman E, Helou CMB, Zatz R. Insuficiência renal aguda. In: Zatz R, editor. Fisiopatologia renal. São Paulo: Atheneu; 2000. p. 261-82.
9. Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. J Clin Invest. 1984;74(4):1156-64.
10. Rezende AH, Cocco MIM. A utilização da fitoterapia no cotidiano de uma população rural. Rev Esc Enferm USP. 2002;36(3):282-8.
11. Miguel MD, Miguel OG. Desenvolvimento de fitoterápicos. Ribeirão Preto: Tecmedd; 2004. p. 18-9.
12. Technology Food Chain. The processing and sustainable management of amazonian medicinal plants [Internet]. 2006 [cited 2010 Apr 7]. Available from: http://praticalaction.org/energy/docs/agroprocessing/food_chain_26.pdf
13. Unha-de-Gato (*Uncaria tomentosa*): descrição e indicações [Internet]. [citado 2010 abr. 7]. Disponível em: <http://www.fitoterapicos.info/unha-de-gato.php>
14. Carvalho JCT. Fitoterápicos antiinflamatórios: aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas. Ribeirão Preto: Tecmedd; 2004. p. 423-28.
15. Williams JE. Review of antiviral and immunomodulating properties of plants of the Peruvian rainforest with a particular emphasis on uña de gato and sangre de grado. Altern Med Rev. 2001;6(6):567-79.
16. Cerri R, Aquino R, De Simone F, Piza C. New quinovic acid glycosides from *uncaria tomentosa*. J Nat Prod. 1988;51(2):257-61.
17. Keplinger K, Laus G, Wurm M, Dierich M, Teppner H. *Uncaria tomentosa*: ethnomedical use and new pharmacological, toxicological and botanical results. J Ethn. 1998;64(1):23-4.
18. Bezerra JS, Teixeira W, Vattimo MFF. Efeito protetor da vitis vinifera na lesão renal aguda isquêmica em ratos. J Bras Nefrol. 2008;30(2):99-104.
19. Wolff SP. Ferrous ion oxidation in presence of ferric ion indicator xylenol orange for measurement of hydroperoxides. Methods Enzymol. 1994;233(1):182-9.
20. Halliwell B, Long LH, Yee TP, Lim S, Kelly R. Establishing biomarkers of oxidative stress: the measurement of hydrogen peroxide in human urine. Curr Med Chem. 2004;11(9):1085-92.
21. Lima ES, Abdalla DSP. Peroxidação lipídica: mecanismo de avaliação em amostras biológicas. Braz J Pharm Sci. 2001;37(3):293-303.